

甲状腺中毒症における赤血球炭酸脱水酵素Iアイソザイムおよび亜鉛濃度は2ヶ月前の平均化された甲状腺ホルモン濃度を反映する

著者	吉田 克己
雑誌名	東北大学医学部保健学科紀要
巻	15
号	2
ページ	93-98
発行年	2006-07-31
URL	http://hdl.handle.net/10097/40455

甲状腺中毒症における赤血球炭酸脱水酵素 I アイソザイム および亜鉛濃度は 2ヶ月前の平均化された 甲状腺ホルモン濃度を反映する

吉田 克己

東北大学医学部保健学科 検査技術科学専攻臨床検査学講座

Erythrocyte Carbonic Anhydrase I and Zinc Concentrations in Thyrotoxicosis Reflect Integrated Thyroid Hormone Levels Over the Previous Few Months

Katsumi YOSHIDA

Department of Medical Technology, School of Health Sciences, Tohoku University

Key words: thyrotoxicosis, carbonic anhydrase, zinc, erythrocyte

In the present review, the clinical utility of determining red blood cell (RBC) carbonic anhydrase I isozyme (CA1) and zinc (Zn) concentrations in patients with various forms of thyroid disease is discussed. RBC CA1 and Zn concentrations were both decreased in patients with hyperthyroid Graves' disease, and the RBC CA1 concentration significantly ($r=0.95$) correlated with the RBC Zn concentration. After treatment, the normalization of RBC CA1 and Zn lagged 2 months behind normalization of plasma thyroxine (T4) and triiodothyronine (T3) levels. Furthermore, the highest correlation coefficients were observed between RBC CA1 and Zn levels and plasma thyroid hormone levels measured 8 weeks earlier. Transient thyrotoxicosis due to destructive thyroiditis did not cause significant changes in the RBC CA1 and Zn concentrations. T3 at a physiological free concentration significantly decreased the level of CA1 mRNA and the concentration of CA1 in burst-forming unit-erythroid-derived cells. These results indicate that the measurement of RBC CA1 and Zn concentrations may be useful as follows: (1) in obtaining an accurate estimate of the extent of elevated thyroid hormone levels in hyperthyroid patients in whom serial measurements were not obtained over time; (2) in differentiating patients with hyperthyroid Graves' disease from those with transient thyrotoxicosis.

緒 言

炭酸脱水酵素(CA)は $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}_2\text{CO}_3$ の反応を触媒する酵素で、亜鉛を含んでいる。種々の組織に存在し、酸塩基平衡や、二酸化炭素の輸送

に重要な役割を演じている¹⁾。ヒト赤血球には少なくとも2種類の isozyme, CA1 および CA2 が存在する。赤血球 CA1 の濃度は CA2 の 7~8 倍高いが、酵素活性は 1/20~30 であるため、CA 活性の大部分は CA2 による。赤血球 CA1, CA2 濃度

は種々の生理的、病的状態で変化し²⁾、妊娠、肺気腫、多血症等とともに上昇し、一方、CA1 は甲状腺機能亢進症では低下する。この中で甲状腺機能亢進症が最も大きな変動をおこすため、機能亢進症を合併した妊婦では赤血球 CA1 濃度は低値を示す。機能亢進症では赤血球 CA2 濃度は不変であり、そのため赤血球 CA 活性はほぼ不変である。ヒト赤血球亜鉛の約 80% は CA1 に含まれているため、両者はほぼ同様に変動する。

本稿では、各種甲状腺疾患における赤血球 CA1 および亜鉛濃度測定 of 臨床的有用性および T3 が CA1 に及ぼす作用を検討する *in vitro* のモデルについて述べる。

甲状腺機能亢進症における赤血球 CA1 および亜鉛濃度

甲状腺ホルモンは赤血球が成熟する過程で CA1 の合成を抑制するため、赤血球 CA1 および亜鉛濃度は甲状腺機能亢進症で低値を示すと報告されている。もし、末梢血中の赤血球 CA1 濃度が変らないとすれば、人赤血球寿命(120 日)を考慮すると、赤血球 CA1 および亜鉛濃度は数ヶ月前の平均化された甲状腺ホルモン濃度を反映すると考えられ、その点について検討した。

赤血球 CA1 濃度は健常人 26 例、甲状腺機能亢進症 25 例、機能低下症 5 例を対象とし、ラジオイムノアッセイで測定した³⁾。赤血球亜鉛濃度は健常人 28 例、機能亢進症 46 例、機能低下症 6 例を対象とし、原子吸光法を用い測定した⁴⁾。健常対照者の Mean \pm 2SD から求めた赤血球 CA1 濃度の正常範囲は 240–520 nmol/g hemoglobin (Hb) であった。甲状腺機能亢進症では 88% で低値を示し、一方、機能低下症では正常範囲内の値を示した。赤血球亜鉛濃度の正常範囲は 130–219 μ mol/LRBC であった。機能亢進症では 93% で低値を示し、一方、機能低下症では正常であった。赤血球 CA1 濃度と亜鉛濃度の間には $r=0.95$ と極めて良い正の相関関係が認められた (図 1)。

機能亢進症を抗甲状腺剤で治療すると、血漿 T₄, T₃ 値は 4 週間後には正常範囲内に低下し、ラジオイムノアッセイで測定した赤血球内 T₃⁵⁾ 濃

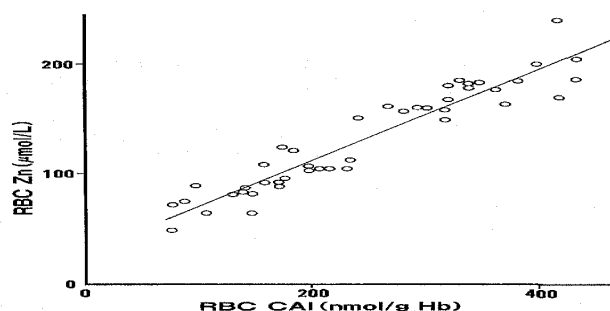


図 1. 赤血球 CA1 濃度と亜鉛濃度の関係

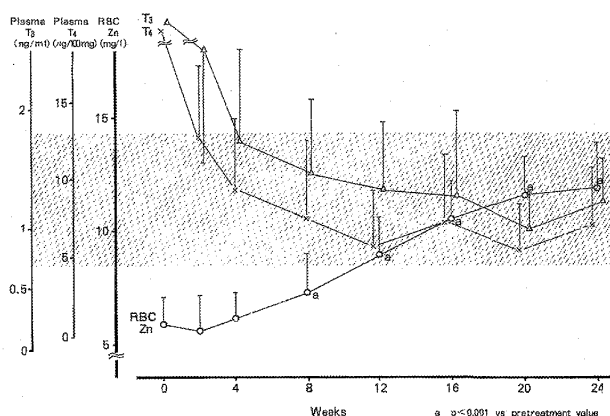


図 2. バセドウ病抗甲状腺剤治療後の甲状腺ホルモン濃度と赤血球亜鉛濃度の変動

度も同様に低下した⁶⁾。一方、赤血球 CA1 および亜鉛濃度は始めの 4 週間は変化せず、8 週後に治療前より有意に上昇したが、なお低値であり、12 週後になって始めて正常範囲の値を示した (図 2)。すなわち赤血球 CA1 および亜鉛の正常化は血中甲状腺ホルモンの正常化に約 2 ヶ月遅れていた。また、赤血球 CA1 および亜鉛濃度は、ともにそれらの測定時より約 2 ヶ月前の血中甲状腺ホルモン濃度と最もよく相関した。以上の結果から、甲状腺機能亢進症において、赤血球 CA1 および亜鉛濃度は糖尿病における HbA1c のように、約 2 ヶ月前の平均化された甲状腺機能を反映すると考えられた。

破壊性 (亜急性および無痛性) 甲状腺炎における赤血球 CA1 および亜鉛濃度

甲状腺の破壊により短期間に急激にホルモンが上昇し、痛みや発熱などの炎症症状を伴うことが

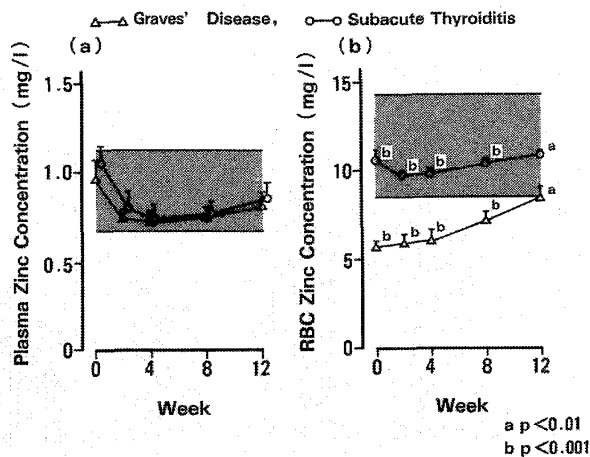


図3. バセドウ病と亜急性甲状腺における(a)血漿亜鉛濃度、(b)赤血球亜鉛濃度の変動

ら、発症後すぐに受診すると考えられる亜急性甲状腺炎10例を対象とし、赤血球CAI³⁾および亜鉛濃度を測定した⁷⁾。血漿T4、T3、亜鉛濃度は機能亢進症と差は認められなかった。一方、赤血球CAI(343±37 nmol/gHb)および亜鉛(161±9 μmol/LRBC)濃度は正常範囲内の値を示し、低値を示した機能亢進症とは異なっていた。プレドニゾロンで加療したところ、血中T4、T3はいずれも2週間以内に正常化した。一方、赤血球CAIおよび亜鉛濃度(図2)は常に正常範囲内の値を示していた。やはり甲状腺の破壊によりホルモンが一過性に上昇すると考えられている無痛性甲状腺炎6例で、赤血球CAIおよび亜鉛濃度を測定したところ、全例で正常範囲内の値を示していた⁸⁾。Lao⁹⁾らは、妊娠初期に悪阻がひどく、HCGのため血中甲状腺ホルモンが一過性に上昇していた例で赤血球亜鉛濃度を測定したところ、全例正常範囲内の値を示したと報告している。以上の結果から、甲状腺ホルモンが一過性に上昇しても、数ヶ月間の平均化された甲状腺機能を反映する赤血球CAIおよび亜鉛濃度は正常であり、これらの測定は甲状腺機能亢進症と一過性にホルモンが上昇する疾患との鑑別に有用であると考えられる。

T4服用中の患者の赤血球CAI濃度

甲状腺腫瘍のためT4抑制療法を受けている患者17例(Group 1)と甲状腺機能低下症でT4補充

表1. T4治療中患者における血漿T4、T3、TSHおよび赤血球CAI濃度

	Group 1 (N=17)	Group 2 (N=17)
T4量 (μg/kg)	3.2±0.4	2.0±0.4**
FT4 (pmol/l)	39±8	25±3**
FT3 (pmol/l)	5.2±0.9	4.3±0.6**
TSH (mU/l)	<0.04	3.5±2.9**
CAI (nmol/gHb)	300±53	340±57*

Mean±SD

p*<0.05, *p*<0.01

療法を受けている患者17例(Group 2)で赤血球CAI濃度を比較した。臨床的には両群ともに euthyroidであったが、表1に示すように Group 1ではT4の投与量、血清FT4、FT3濃度が高く、TSHは低値であった。赤血球CAI濃度はGroup 1で有意に低値を示し、血清ホルモン濃度の比較的軽度の上昇でも、赤血球CAI濃度は低下することが明らかとなった(表1)¹⁰⁾。

TSH不適切分泌症候群における赤血球CAIおよび亜鉛濃度

上述のように、赤血球CAIおよび亜鉛濃度は甲状腺機能亢進症の約90%で低値を示すので、それらの測定は甲状腺ホルモンの末梢代謝の指標の1つとして非常に有用であると考えられる。そこで、甲状腺ホルモン不応症で赤血球CAIおよび亜鉛濃度を測定した。赤血球CAIおよび亜鉛濃度は、血中遊離甲状腺ホルモンが高値にもかかわらず血清TSH濃度が正常で、臨床的に euthyroidを呈した全身型不応症の3例、および下垂体選択型不応症で機能亢進症状を呈したため、抗甲状腺剤とプロモクリプチンの投与をうけ、 euthyroidの状態にあった1例では正常範囲の値を、全身型と下垂体型の中間の病態で、若干機能亢進症状を呈した1例とTSH産生腫瘍で機能亢進症状を呈した1例で低値を示した⁸⁾。以上のように、赤血球CAIおよび亜鉛濃度の測定は、甲状腺ホルモンの末梢代謝の指標の1つとして甲状腺ホルモン不応症の診断に有用である。

赤血球亜鉛濃度の簡便な測定法の開発

血清亜鉛濃度測定用に市販されている“Zn-テストワコー”キットを用い、赤血球亜鉛濃度の測定を試みた。赤血球を10倍希釈後上記キットを用いて測定した赤血球亜鉛濃度は、原子吸光度計で測定した値と極めてよく相関した($r=0.97$)。カットオフ値を10 mg/L とすると、バセドウ病と無痛性甲状腺炎による甲状腺中毒症を95% 鑑別可能であり、従来法の TRAb よりも有用であった¹¹⁾。

赤芽球系培養細胞における CA1 濃度に及ぼす T3 の影響

甲状腺ホルモンが赤血球 CA1 濃度を低下させる作用機序を解明するための *in vitro* の系を得る目的で、種々の赤芽球系培養細胞を用い、CA1 が含まれるのか否か、甲状腺ホルモンに反応して CA1 が低下するか否かについて検討した。用いた細胞のうち、K562 には CA1 が存在せず、HEL には CA1 は存在したが T3 に反応しなかった。東北大学第二内科で慢性骨髄性白血病の急性転化例の末梢血から樹立された YN-1 細胞には 1.9×10^{-11} mol/10⁶ cells の CA1 が存在した。YN-1 には high affinity, low capacity の核 T3 受容体が認められ、 1×10^{-8} mol/L 以上の T3 と3日間以上培養すると、CA1 濃度は有意に(32%)低下した。さらに、YN-1 に TGF- β_1 を加え、ヘモグロビンを多量に産生するよう分化させると、T3 による CA1 低下作用は増強した(42%)。以上の結果から、YN-1 は T3 の CA1 低下作用を検討する、よい *in vitro* のモデルであると考えられる¹²⁾。

ヒト赤芽球バースト形成細胞(BFU-E)由来細胞の CA1 濃度に及ぼす T3 の影響

個人個人で甲状腺ホルモンに対する反応性を検討できる *in vitro* の系を確立することを目的に、T3 が健常人末梢血単核球を培養して得た BFU-E 由来細胞の CA1 濃度に及ぼす影響について検討した。BFU-E 由来細胞には 4.8×10^{-12} mol/10⁶ cells の CA1 が含まれており、T3 を 3×10^{-10}

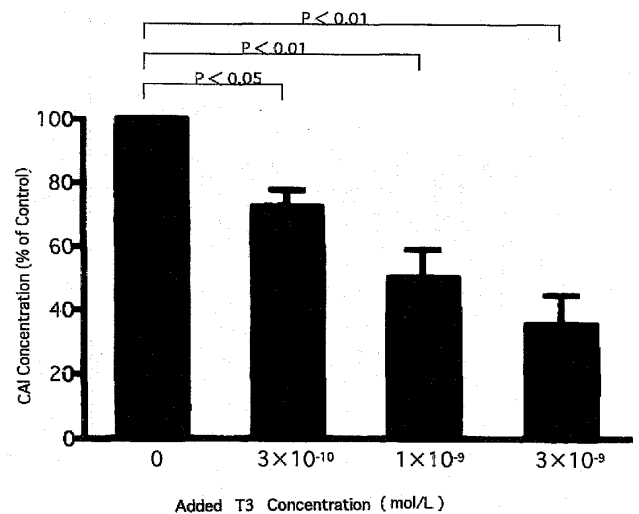


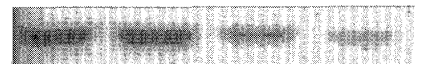
図4. BFU-E 由来細胞の CA1 濃度発現に及ぼす T3 の影響

mol/L 以上添加すると、有意に、かつ濃度依存性に CA1 濃度は低下した(図4)。一方、ヘモグロビンや全蛋白濃度は不変であった。以上の結果から、BFU-E 由来細胞における T3 の CA1 低下作用は特異的であると考えられ、甲状腺ホルモンに対する反応性を個人個人で検討できるため、甲状腺ホルモン不応症の診断に極めて有用であると考えられる¹³⁾。

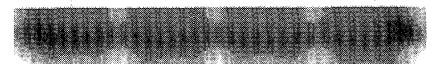
ヒト赤芽球系細胞の CA1mRNA 発現に及ぼす T3 の影響

T3 は YN-1 細胞において、CA1 濃度を低下させた量と同量の 1×10^{-8} mol/L 以上の添加で CA1mRNA の発現を濃度依存性に抑制した。一方、CA1 濃度に変化がなかった HEL の CA1mRNA の発現には影響を及ぼさなかった。

CA1mRNA



β -actin



T3濃度 0 0.1nM 1nM 10nM

図5. BFU-E 由来細胞の CA1mRNA 発現に及ぼす T3 の影響

T3 は健常人の末梢血を培養して得た BFU-E 由来細胞の CA1mRNA の発現を 1×10^{-10} mol/L という生理的な濃度で低下させた¹⁴⁾ (図 5)。

結 論

赤血球 CA1 および亜鉛濃度は、甲状腺ホルモンが高値を示す疾患では数ヶ月前の平均化された甲状腺機能を反映し、1) 甲状腺機能亢進症患者の長期的な経過観察に、2) 甲状腺機能亢進症と一過性にホルモンが上昇する疾患の鑑別に、3) 甲状腺ホルモンの末梢代謝の 1 つとして甲状腺ホルモン不応症の診断に、有用であると考えられた。また、YN-1 細胞および BFU-E 由来細胞は甲状腺ホルモンの作用を検討するヒトの細胞モデルとして有用である。なお、本稿の一部は東北医学雑誌¹⁵⁾に記載されている。

文 献

- 1) Tashian, R.E.: The carbonic anhydrases: Widening perspectives on their evolution, expression and function, *BioEssays*, **10**, 186-192, 1989
- 2) Funakoshi, S., Deutsch, H.F.: Human carbonic anhydrases. V. Levels in erythrocytes in various states, *J. Lab. Clin. Med.*, **47**, 39-45, 1971
- 3) Kiso, Y., Yoshida, K., Kaise, K., Kaise, N., Fukazawa, H., Mori, K., Abe, K., Yoshinaga, K.: Erythrocyte carbonic anhydrase-I concentrations in patients with Graves' disease and subacute thyroiditis reflect integrated thyroid hormone levels over the previous few months, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **72**, 515-518, 1991
- 4) Yoshida, K., Kiso, Y., Watanabe, T., Kaise, K., Kaise, N., Itagaki, Y., Yamamoto, M., Sakurada, T., Yoshinaga, K.: Erythrocyte zinc in hyperthyroidism: Reflection of integrated thyroid hormone levels over the previous few months, *Metabolism*, **39**, 182-186, 1990
- 5) Yoshida, K., Davis, P.J.: Estimation of intracellular free triiodothyronine in man, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **50**, 667-669, 1980
- 6) Kiso, Y., Yoshida, K., Watanabe, T., Yamamoto, M., Kaise, K., Kaise, N., Itagaki, Y., Arai, T., Sakurada, T., Saito, S., Yoshinaga, K.: Erythrocyte zinc concentration in patients with hyperthyroidism, *The Thyroid 1988*, Nagataki, S., Torizuka, K., eds., Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, 1988, p. 443-446
- 7) Yoshida, K., Kiso, Y., Watanabe, T., Kaise, K., Kaise, N., Fukazawa, H., Yamamoto, M., Sakurada, T., Yoshinaga, K.: Erythrocyte zinc concentration in patients with subacute thyroiditis, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **70**, 788-791, 1990
- 8) Yoshida, K., Kiso, Y., Watanabe, T., Kaise, K., Kaise, N., Fukazawa, H., Mori, K., Abe, K., Yoshinaga, K.: Clinical utility of red blood cell carbonic anhydrase I and zinc concentrations in patients with thyroid diseases, *Metabolism*, **40**, 1048-1051, 1991
- 9) Lao, T.T.H., Chin, R.K.H., Swaminathan, R., Panesar, N.S., Cockram, C.S.: Erythrocyte zinc in differential diagnosis of hyperthyroidism in pregnancy: A preliminary report, *Brit. Med. J.*, **294**, 1064-1065, 1987
- 10) Yoshida, K., Kiso, Y., Kurihara, H., Kaise, K., Kaise, N., Fukazawa, H., Mori, K., Kikuchi, K., Yoshinaga, K.: Erythrocyte carbonic anhydrase I concentration in patients receiving thyroxine, *Endocrinol. Jpn.*, **38**, 363-367, 1991
- 11) Sayama, N., Yoshida, K., Mori, K., Fukazawa, H., Hori, H., Nakazato, N., Tani, J., Nakagawa, Y., Ito, S.: Measurement of red blood cell zinc concentration with Zn-test kit: Discrimination between hyperthyroid Graves' disease and transient thyrotoxicosis, *Endocrine J.*, **45**, 767-772, 1998
- 12) Kikuchi, K., Yoshida, K., Endo, K., Aizawa, Y., Fukazawa, H., Mori, K., Abe, K.: Effects of thyroid hormone on carbonic anhydrase I levels in human erythroid (YN-1) cells, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **79**, 71-75, 1994
- 13) Sayama, N., Yoshida, K., Endo, K., Kiso, Y., Fukazawa, H., Mori, K., Kikuchi, K., Aizawa, Y., Hori, H., Abe, K.: Effects of thyroid hormone on carbonic anhydrase I concentration in human erythroid burst-forming unit-derived

- cells, *Endocrinology*, **137**, 1828-1832, 1996
- 14) Hori, H., Yoshida, K., Fukazawa, H., Kiso, Y., Sayama, N., Mori, K., Aizawa, Y., Tani, J., Ito, S.: Effects of thyroid hormone on carbonic anhydrase I gene expression in human erythroid cells, *Thyroid*, **8**, 525-531, 1998
- 15) 吉田克己：数ヶ月前の平均化された甲状腺機能を反映する赤血球炭酸脱水酵素1アイソザイムおよび亜鉛濃度に関する研究, *東北医誌*, **109**, 49-52, 1997